

顕微蛍光測光法に基づくヒト大腸癌の細胞増殖動態 解析　：　臨床・病理学的所見との対比

著者	橋本 敏和
発行年	1991-06-21
URL	http://hdl.handle.net/10422/1814

氏名・(本籍)	橋 本 敏 和 (滋賀県)
学 位 の 種 類	医学博士
学 位 記 番 号	論医博第 87 号
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位授与年月日	平成 3 年 6 月 21 日
学位論文題目	顕微蛍光測光法に基づくヒト大腸癌の細胞増殖動態解析 — 臨床・病理学的所見との対比 —

審 査 委 員	主査 教授	服 部 隆 則
	副査 教授	小 玉 正 智
	副査 教授	挟 間 章 忠

論 文 内 容 要 旨

〔目 的〕

ヒト大腸癌の細胞増殖動態を落射型顕微蛍光測光法を用いた検索と大腸癌取扱い規約に準じた臨床・病理学的所見の対比から解析した。

〔方 法〕

新鮮およびパラフィン包埋組織の大腸癌 91 例（早期癌 20 例、進行癌 71 例）および対照とした非病変部大腸粘膜を用いた。新鮮組織に関しては、乱切により単離細胞浮遊液を得た後、塗抹伸展標本作製し、アクリジン・オレンジ染色した。パラフィン包埋組織に関しては、厚切り切片を脱パラフィン後、コラゲナーゼ処理および機械的破碎にて単離細胞浮遊液とし、非特異蛍光除去処理後、塗抹伸展標本とし、プロピディウム・アイオダイド染色した。これらの標本を落射型顕微蛍光多重測光装置（Nikon SPM-RFI-D）に応用し、新鮮組織については DNA 量と RNA 量を、パラフィン包埋組織については核 DNA 量を測光定量し、データは直結したマイクロコンピュータを運用して統計解析した。

〔結 果〕

対照の解析結果では、ほとんどが 2 倍体細胞（G₀/G₁期）で構成され S-G₂期細胞を極く少数（2～3%）に認めた。91 例の大腸癌では、核 DNA 量分布に基づくプロイディ・パターンの違いから I、II、II' 群に分類した。まず I 群（22 例）は、構成癌細胞の大部分が 2 倍体細胞

胞で、対照に比べて増加した。(10%以上) S-G₂期細胞を含むもので、組織学的には、細胞・核の多形性が軽度～中等度に認められた。次にⅡ群(44例)は、2倍体系の増殖細胞に加えて、種々の程度にポリプロイド細胞を含むもので、組織学的には細胞・核の多形性が中等度以上に強く認められた。さらに、Ⅱ'群(25例)は、その基本となるポピュレーションの stem line の DNA量が異数倍体(DNA aneuploidy)の細胞からなるもので、組織学的には、細胞・核の多形性は中等度以上であった。

これらの増殖動態パターンと臨床・病理学的所見を検討すると、まず、病理組織学的分類では、Ⅰ群およびⅡ'群は高分化型腺癌に多く、Ⅱ群は高分化型腺癌および中分化型腺癌に多く認められた。次に、肉眼的分類では、早期癌はⅠ群がⅠ_sおよびⅠ_pに、Ⅱ群およびⅡ'群がⅠ_pに多く、進行癌は3群ともに2型に多く認められた。さらに、占居部位では、早期癌は一定の傾向はなかったが、進行癌はⅠ群が大腸全域に存在し、Ⅱ群およびⅡ'群がS状結腸および直腸に多かった。一方、壁深達度では、m癌はほとんどがⅠ群を示し、sm癌以上ではⅡ群およびⅡ'群が多く認められ、各症例の2倍体細胞頻度では、壁深達度に関わりなくⅠ群は常に高値を、Ⅱ'群は常に低値を、Ⅱ群は壁深達度が増すにつれて次第に減少する傾向を示した。また、リンパ節転移では、Ⅱ群に多い傾向があったが、肝転移では、3群の間に違いは少なかった。

〔考 察〕

本研究結果から、大腸癌の増殖動態パターンをⅠ群(2倍体群)、Ⅱ群(多倍体群)、Ⅱ'群(異数倍体群)の3つに分類したが、従来の顕微蛍光測光法を用いた研究では、ほとんどの症例が本研究で分類したⅡ群やⅡ'群である。また、フロー・サイトメトリーによる研究では、多くの研究者は大多数の症例が異数倍体群としている。この違いの要因には、従来の顕微蛍光測光法ではあまり多くない個数の裸核を計測していることから分散幅の広いヒストグラムとなること、フロー・サイトメトリーでは、破壊された細胞なども測光することから異数倍体群が多く、DNA量を持つ大型細胞を細胞集塊として除外してしまうことから多倍体群が少なく計測されること、などの可能性が推測される。

次に、増殖動態パターンと臨床・病理学的所見の検討より、増殖動態パターンが病理組織学的分類および肉眼的分類に関連がないことから、大腸癌の細胞増殖動態は構造異型ではなく、3群の各々の組織学的特徴に示される細胞異型を反映しているものと考えられた。さらに、Ⅰ群が大腸全域に存在しⅡ群およびⅡ'群が下部大腸に多く、大腸癌がS状結腸および直腸に多いことから、Ⅰ群は相対的に上部大腸に多いと考えられ、癌の発育環境が増殖動態に及ぼす影響も伺われる。一方、m癌はほとんどがⅠ群であるが、sm癌以上はⅡ群とⅡ'群が多く、また、2倍体細胞頻度がⅠ群およびⅡ'群では壁深達度に関わりなく変化が少なく、Ⅱ群では壁深達度が増すに連れて減少傾向を示すことから、大腸癌の初期(m癌)ではⅠ群を示すが、sm癌に進展する過程で次第にⅡ群、Ⅱ'群が生じ、その後Ⅰ群およびⅡ'群はパターンをあまり変化させずに生長し、Ⅱ群は生長に伴って多倍体化がより高度に進行するものと推察される。また、リンパ節転移

がⅡ群に多い傾向から、多倍体化がリンパ節転移と関連をもつ可能性が示唆される。

〔結 論〕

ヒト大腸癌の細胞増殖動態は増殖動態パターンの違いからⅠ、Ⅱ、Ⅱ'群の3群に分類され、癌の初期にはⅠ群であるが、増殖・生長に伴いⅡ群およびⅡ'群が生じ、その後Ⅰ群およびⅡ'群の変化は少なくⅡ群は多倍体化が進行してゆくものと考えられた。また、大腸癌では、細胞増殖動態の違いは細胞異型の反映と考えられ、発育環境からの増殖動態への影響が伺われ、多倍体化とリンパ節転移の関連が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

本論文は、大腸癌の特性をDNA ploidy patternから検討したものである。

著者は、91例の大腸癌（早期癌20例、進行癌71例）のDNA ploidy patternを落射型顕微蛍光測光法で調べ、癌の組織型と浸潤部位、また、転移の有無とploidy patternの関連性を検討している。顕微蛍光測光の結果、調べられた大腸癌の22例（24.2%）が2倍体（diploid）癌、44例（48.4%）が多倍体（polyploid）を伴う2倍体癌、25例（27.4%）が異倍体（aneuploid）癌であった。研究の対照とされた正常粘膜は2倍体の細胞のみからなっており、S期やG2期細胞が2-3%みられるのに比し、2倍体の癌ではS期とG2期の細胞が10%以上で、癌では増殖活性が明らかに亢進していた。組織学的にみると、2倍体癌では高分化型腺癌が多かったが、多倍体をともなう2倍体癌や異倍体癌では中分化ないし低分化腺癌が多かった。多倍体や異倍体の出現は癌組織における核の異型性（とくに多型性）と相関していた。癌の進行度とploidy patternの検討では、早期癌、とくに粘膜内癌では、2倍体が大半であったが、粘膜下層以上に浸潤する癌では多倍体や異倍体を示すものが多くみられ、癌の進行（progression）の過程でploidy patternが変化することが示された。リンパ節転移をした症例では多倍体を含む癌が多かったが、一方、肝転移を示すものでは2倍体癌とそうでないものに差はなかった。大腸における発生部位とploidy patternの関連では、右結腸の癌では2倍体が多く、左結腸の癌では多倍体や異倍体のものが多かったが、有意な差はなかった。

本論文は、大腸癌が2倍体として発生し、進展の過程で多倍体や異倍体が発生するものが多いことを明らかにしたもので、癌の特性の研究や癌の治療に基礎的なデータを与えるもので、医学博士の学位論文に値する。